

**T.P. DE AULA N° 7 y 8****BIOSÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS - CICLO DEL GLIOXILATO****OBJETIVOS**

- Analizar las rutas metabólicas por las cuales los organismos utilizan los ácidos grasos como fuente de energía y poder reductor.
- Comprender las etapas de la síntesis de ácidos grasos.
- Interrelacionar las vías del metabolismo de lípidos con otras rutas metabólicas.
- Comprender los mecanismos de regulación del metabolismo de ácidos grasos.
- Comprender la secuencia de reacciones y la importancia metabólica del Ciclo de Glioxilato en los vegetales y microorganismos.

**INTRODUCCION**

Los lípidos de la dieta son una fuente importante de energía, aportando 9 kilocalorías por cada gramo degradado, más del doble que la proporcionada por las proteínas y carbohidratos (4 kcal/g). Por otro lado, las grasas, proporcionan sensación de saciedad y contribuyen a la palatabilidad de los alimentos. Además transportan las vitaminas liposolubles A, D, E y K.

Para que los lípidos de la dieta puedan ser utilizados por el organismo, deben ser digeridos y absorbidos en el tracto intestinal para luego ser distribuidos a través del torrente sanguíneo a las células de los distintos tejidos (principalmente hígado y tejido adiposo).

La mayor parte de los lípidos son transportados en la sangre, unidos a proteínas plasmáticas formando complejos denominados “lipoproteínas”. Los triglicéridos unidos a las lipoproteínas son hidrolizados a nivel del endotelio de los vasos sanguíneos a glicerol y ácidos grasos. El glicerol es transportado al hígado y los ácidos grasos ingresan a las células donde serán almacenados, en forma de triglicéridos, o se degradarán para proveer de energía.

### Degradación de Ácidos Grasos

En mamíferos, el centro principal de acumulación de triglicéridos es el citoplasma de las células adiposas (adipocitos).

El primer paso en la utilización de las grasas como fuente de energía es la hidrólisis de los triglicéridos por acción de lipasas reguladas por hormonas. Luego los ácidos grasos libres se degradan en las mitocondrias de las células (hígado y tejidos extrahepáticos) por eliminación secuencial, a partir del **extremo carboxílico**, de unidades de dos carbonos (acetil-CoA), proceso conocido como vía de **β-oxidación**.

Previo a la β-oxidación, los **ácidos grasos citosólicos** deben ser activados y transportados conjugados con **carnitina**, a través de la membrana mitocondrial interna hasta la **matriz mitocondrial** donde se produce la oxidación. El sistema de transporte comprende dos enzimas: la *carnitinaaciltransferasa I* y *II*. Mediante la siguiente representación podemos esquematizar dicho sistema de transporte:

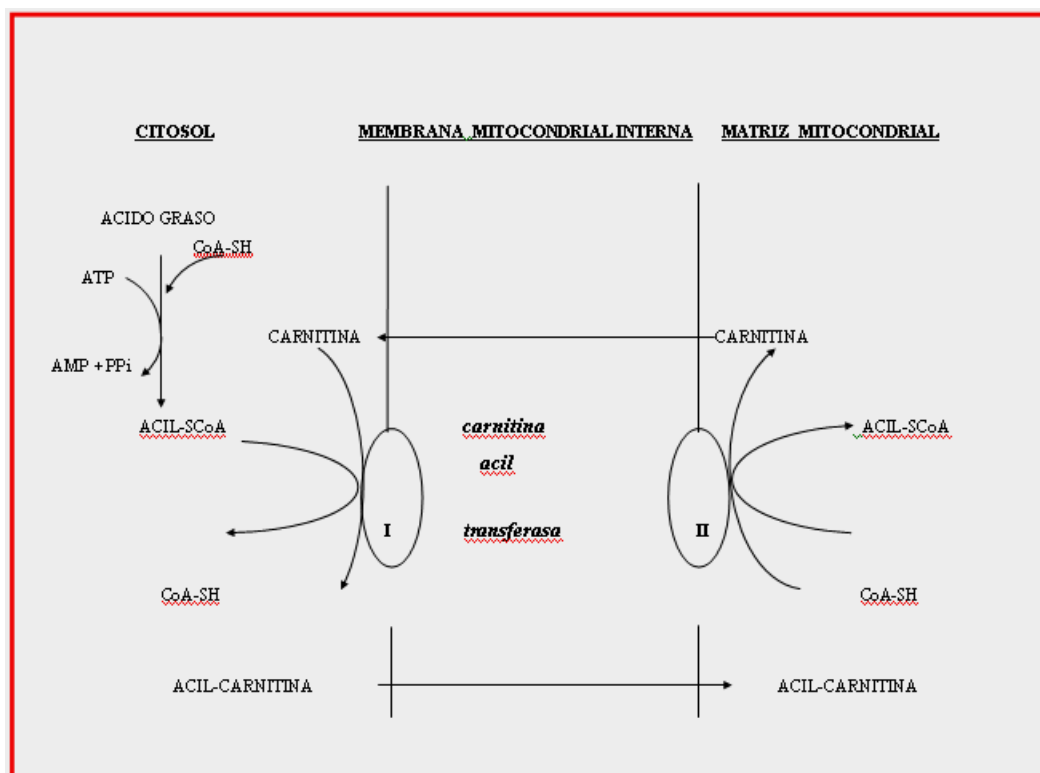


Fig. 24: Esquema del transporte mitocondrial de ácidos grasos.

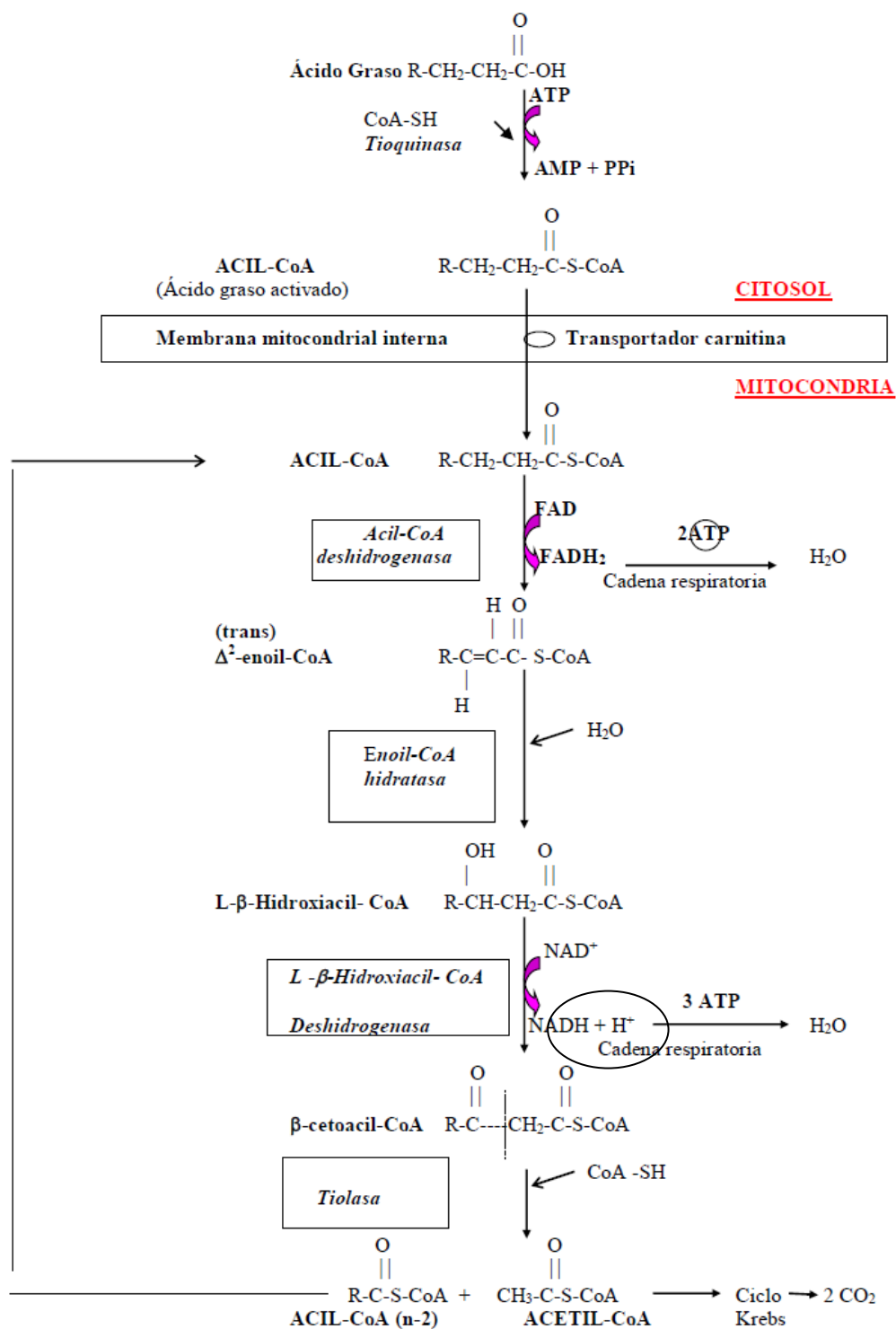


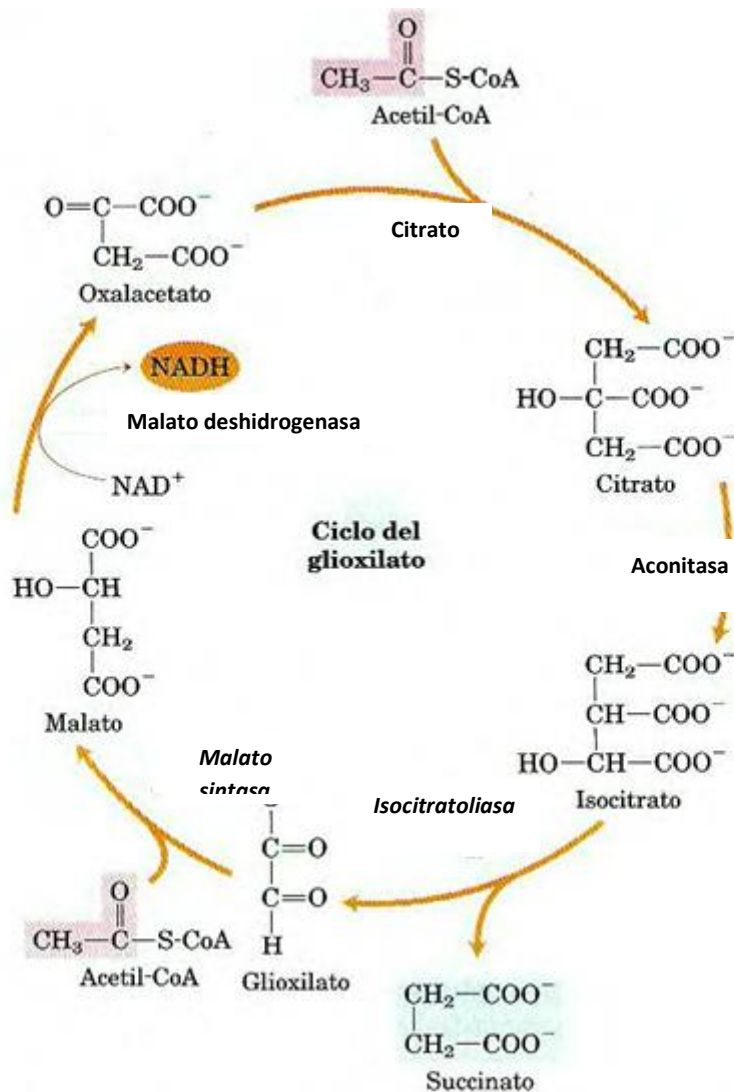
Fig. 25: Beta-oxidación de ácidos grasos saturados

### Ciclo del Glioxilato

Los vertebrados no pueden utilizar los ácidos grasos o el acetato derivado de ellos como material de partida para sintetizar glucosa mediante gluconeogénesis. Sin embargo en las plantas, ciertos invertebrados y algunos microorganismos, el acetato puede ser utilizado como fuente de fosfoenolpiruvato para la síntesis de glúcidos. En estos organismos las enzimas del *ciclo del glioxilato* catalizan la conversión neta de acetato en succinato u otro intermediario de cuatro átomos de carbono del ciclo de Krebs.

Al igual que ocurre en el ciclo de Krebs, en el ciclo del glioxilato el acetil-CoA se condensa con el oxalacetato para dar citrato que luego es convertido en isocitrato. Sin embargo luego sobre el isocitrato actúa la isocitratoliasa formando succinato y glioxilato. El glioxilato se condensa con una segunda molécula de acetil-CoA para dar malato en una reacción catalizada por malato sintasa. *Isocitratoliasa* y *malato sintasa* son enzimas específicas del ciclo del glioxilato, las enzimas restantes son comunes a las enzimas del ciclo de Krebs.

Cada vuelta del ciclo del glioxilato consume dos moléculas de acetil-CoA y produce una molécula de succinato, disponible para fines biosintéticos. El succinato puede convertirse a través de fumarato y malato en oxalacetato, el cual puede convertirse en fosfoenolpiruvato y producir glucosa mediante gluconeogénesis.



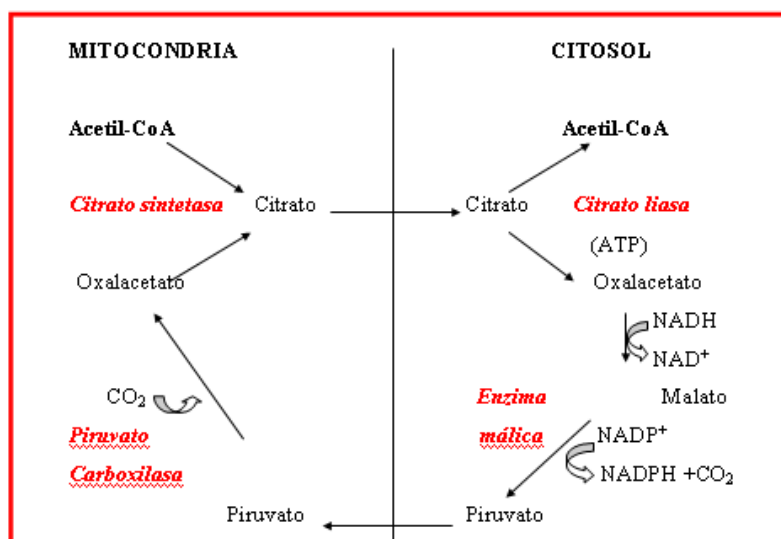
**Fig. 26: Ciclo del Glioxilato.** Tomado de Nelson D.L. and Cox M.M., "Lehninger. Principios de Bioquímica, 4<sup>ta</sup> edición.

## BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

La síntesis de ácidos grasos se produce en el citosol y sus intermediarios están unidos a una proteína portadora de acilos (ACP).

El sistema enzimático que cataliza la síntesis de ácidos grasos saturados de cadena larga, a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH se denomina Ácido Graso Sintasa (AGS).

El citrato transporta grupos acetilo desde la mitocondria al citosol donde luego serán utilizados para la síntesis de ácidos grasos.



**Fig. 27:** Esquema del transporte de grupos acetilo para la biosíntesis de ácidos grasos

A continuación se enumeran las reacciones que conducen a la síntesis de palmitato en los organismos superiores y bacterias:

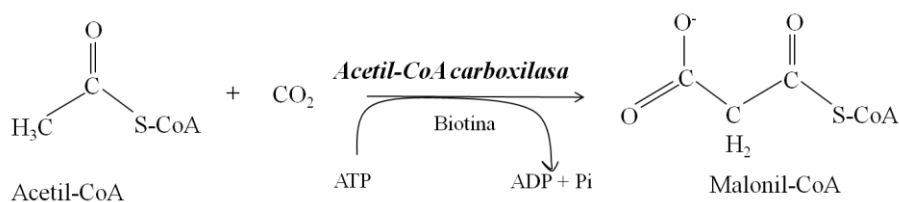
Etapas	Reacción	Enzima
1	$\text{Acetil-CoA} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \longrightarrow \text{Malonil-CoA} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{H}^+$	Acetil-CoA carboxilasa
2	$\text{Acetil-CoA} + \text{HS-EC} \longrightarrow \text{Acetil-EC} + \text{CoA}$	Acetil transferasa (transacetilasa)
3	$\text{Malonil-CoA} + \text{ACP} \longrightarrow \text{Malonil-ACP} + \text{CoA}$	Malonil transferasa
4	$\text{Acetil-EC} + \text{Malonil-ACP} \longrightarrow \text{Acetoacetyl-ACP} + \text{HS-EC} + \text{CO}_2$	Enzima condensante
5	$\text{Acetoacetyl-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{D-3-OH-butilil-ACP} + \text{NADP}^+$	$\beta$ -Cetoacil-reductasa
6	$\text{D-3-OH-butilil-ACP} \longrightarrow \Delta^2 \text{butenolil-ACP} + \text{H}_2\text{O}$	3-OH-acil deshidratasa
7	$\Delta^2 \text{butenolil-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{Butiril-ACP} + \text{NADP}^+$	Enoil-ACP reductasa

EC: Enzima condensante

ACP: Proteína transportadora de acilo

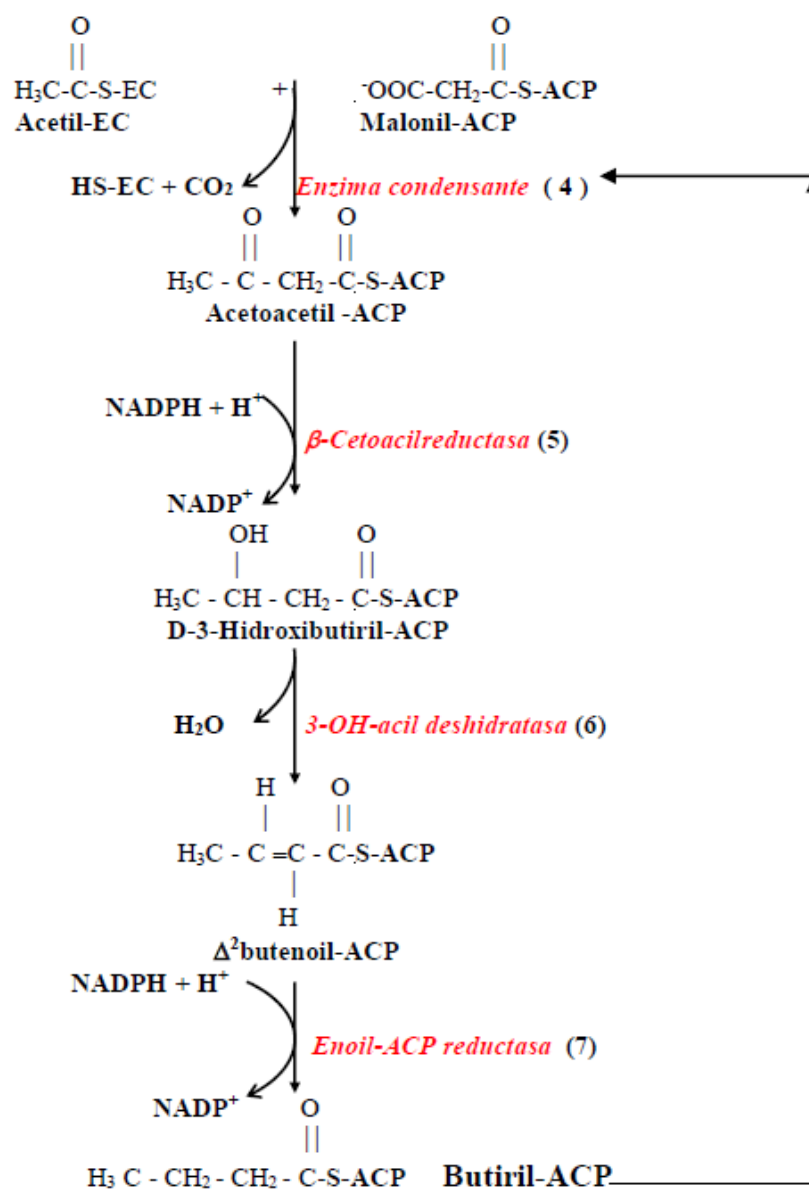
### Reacción 1 - Formación de malonil-CoA

Acetil-CoA reacciona con  $\text{CO}_2$  para formar malonil-CoA por acción de *acetil-CoA carboxilasa* que utiliza biotina (Vitamina del complejo B) como coenzima, esta coenzima actúa como transportador de  $\text{CO}_2$



Esta etapa es irreversible y regula la velocidad de biosíntesis de ácidos grasos.

A continuación se representa el mecanismo de las **Reacciones: 4, 5, 6 y 7.**



Esta secuencia de reacciones forma butiril-ACP, lo cual completa el primer ciclo de elongación.

En el segundo ciclo el butiril es transferido desde la ACP a la enzima condensante (EC) formándose butiril-EC, éste se condensa con otra molécula de malonil-ACP y se repite el ciclo formando un hexil-ACP. Los ciclos de elongación continúan hasta llegar a palmitoil-ACP, el cual se hidroliza por una *esterasa* para producir palmitato y ACP.

**Comparación de la síntesis y degradación de los ácidos grasos**

	<b>Síntesis</b>	<b>Degradación</b>
Activa	Tras comidas, situación post-prandial	Ayuno y ejercicio prolongado
Principales tejidos implicados	Hígado y tejido adiposo	Músculo e hígado
Zona	Citosol	Mitocondria
Donante/ productor de 2C	Acetil-CoA y Malonil-CoA	Acetil-CoA
Transportador de Acido Graso activo	Unido a ACP	Unido a CoA
Enzimas	Acido Graso Sintetasa (complejo multienzimático)	Probablemente no asociadas.
Oxidante / reductor	NADPH	NAD <sup>+</sup> y FAD
Control alostérico	El citrato activa la acetil-CoA carboxilasa, el palmitoil-CoA la inhibe.	Malonil-CoA inhibe la carnitina-acil-transferasa I
Control hormonal	La insulina activa la acetil-CoA carboxilasa, la adrenalina y el glucagón la inhiben.	La adrenalina y el glucagón activan la lipasa, la insulina la inhibe
Producto	Palmitato.	Acetil CoA

**PROBLEMAS DE APLICACIÓN****DEGRADACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

- 1) ¿Cuántas moléculas de CoA se necesitarán para degradar el ácido palmítico (16 C) hasta CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O? ¿Cuántos ATP se generaran en el proceso? Suponiendo que exista un déficit de oxalacetato, ¿qué ocurrirá con la cantidad de ATP generado?
- 2) ¿Cuántas moléculas de CoA se necesitan y cuántos ATP se producirán en la transformación de ácido esteárico (18 C) en ácido láurico (12 C) y acetil-CoA por  $\beta$ -oxidación?



3) Demostrar cuál de los rendimientos de ATP es mayor: ¿por la degradación de 6 C de un ácido graso ó por los 6 C de una hexosa ? Considerar que el catabolismo en cada caso, procede hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ .

4) El catabolismo de triglicéridos en el hígado produce síntesis neta de glucosa, sin embargo los ácidos grasos no participan en dicha síntesis. ¿Cómo es posible?

5) Suponga que tuviera que subsistir con una dieta consistente en grasa de ballena y foca, sin prácticamente ningún aporte de glúcidos.

a) ¿Cuál sería el efecto de la privación de glúcidos sobre la utilización de grasas para la obtención de energía?

b) Si la dieta no contiene glúcidos en absoluto, ¿sería mejor consumir ácidos grasos de cadena par o impar?

6) Las aves migratorias pueden volar enormes distancias sin detenerse. ¿Cómo pueden enfrentar semejante gasto energético? Investigue la relación de este fenómeno con el metabolismo de las grasas.

Bibliografía complementaria: Stryer L. Vol II, 4ª ed. Ed. Reverté S.A.

### CICLO DEL GLIOXILATO

1- Se ha observado que durante el crecimiento de varios hongos patógenos de plantas hay una elevada expresión de la enzima *isocitrato-liasa*. Estos hongos ven favorecido su desarrollo, con respecto a otras especies, en condiciones de baja concentración de glucosa, baja tensión de oxígeno y altos niveles de acetato.

a- ¿Cómo explica que una mayor expresión de *isocitrato-liasa* favorezca el desarrollo de estos hongos en las condiciones mencionadas?

El Ciclo del Glioxilato también es llevado a cabo en semillas en germinación.

b- ¿Cuál sería la principal fuente de carbonos en ese caso?

c- ¿Qué organelas estarían implicadas?

d- Explique el sentido general de Ciclo del Glioxilato. ¿Considera que se trata de una vía anabólica o catabólica?

**BIOSINTESIS DE ACIDOS GRASOS**

1) Suponiendo que se incubaba homogenato de tejido que posee todas las enzimas necesarias para la síntesis de ácidos grasos y también NADPH, ATP,  $\text{CO}_3\text{H}^-$  y  $2\text{-}^{14}\text{C}$  –piruvato ¿Cuáles serán los átomos de carbono que resultarán marcados en el ácido palmítico?

2) ¿Cuál de los siguientes compuestos puede servir para la síntesis neta de ácidos grasos en el organismo de la rata? ¿Cuántos átomos de carbono de cada uno de ellos pueden ser convertidos en carbonos de ácidos grasos?

a- Fructosa                      b- Sacarosa                      c- Bicarbonato de sodio                      d- Alanina

3) Acetil-CoA carboxilasa constituye el principal punto de regulación de la biosíntesis de ácidos grasos. Algunas propiedades de la enzima se describen a continuación.

- a- La adición de citrato o isocitrato aumenta la  $V_{\text{max}}$  de la enzima en un factor de hasta 10.
- b- La enzima existe en dos formas interconvertibles que difieren marcadamente en sus actividades:

*Protómero (inactivo)  $\longrightarrow$  Polímero filamentoso (activo)*

El citrato y el isocitrato se fijan preferentemente a la forma filamentosa mientras que el palmitoil-CoA se fija al protómero.

Explique de qué modo estas propiedades son consistentes en el papel regulador de la acetil-CoAcarboxilasa en la biosíntesis de los ácidos grasos.

4) El complejo enzimático que sintetiza ácidos grasos en el citoplasma de hepatocitos normalmente cataliza la síntesis de ácido palmítico a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH.

- a- ¿Cuáles serían los productos de la reacción si el acetil-CoA se reemplazara por:
  - 1- Propionil-CoA                      2- Butiril-CoA
- b- ¿Qué información puede dar respecto al mecanismo de la síntesis de palmitato con los resultados del experimento precedente?

5) Comparar los siguientes aspectos de la síntesis y degradación de ácidos grasos:

- a- Lugar del proceso.
- b- Transportador de acilos.
- c- Reductores y oxidantes.
- d- Estereoquímica de los intermediarios
- e- Forma en que participan las unidades de 2 C
- f- Participación del  $\text{CO}_2$

6) Cerca del 90% del peso de la cabeza del cachalote está constituido por el órgano espermaceti, masa grasosa localizada sobre la mandíbula superior. Investigue acerca de la composición y función de este órgano, que permite al cetáceo una excelente adaptación anatómica y bioquímica perfeccionada por la evolución.

## GUIA DE ESTUDIO

### Degradación de Ácidos Grasos

- Esquematice la primera secuencia de reacciones de la degradación de palmitoil-CoA, mencionando las enzimas que intervienen.
- ¿Qué enzima interviene en el proceso de activación de un ácido graso? Formular la reacción. ¿Cuántas uniones de alta energía se gastan en este proceso?
- ¿Cómo se transporta el ácido graso desde el citosol a la mitocondria?
- ¿Cuáles son las coenzimas que intervienen en el proceso de  $\beta$ -oxidación?
- ¿En qué lugar de la célula ocurre el proceso de degradación de los ácidos grasos?
- ¿Cuáles son los productos de la degradación de un ácido graso de número impar de átomos de carbono?
- ¿Cuántos ATP y cuántas moléculas de acetil-CoA se producen por degradación de un ácido graso de 12 átomos de carbono hasta acetil-CoA? Idem hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ?
- ¿En qué procesos metabólicos pueden utilizarse los carbonos provenientes de la degradación de los ácidos grasos?

### Ciclo del Glioxilato

- ¿En qué tipo de organismos ocurre y cuál es su sentido metabólico?
- Localización celular. Esquema de las reacciones implicadas.
- Diferencias y conexión con el Ciclo de Krebs.

**Biosíntesis de Ácidos Grasos**

- ¿Cuáles son los precursores de la síntesis de ácidos grasos?
- ¿Cuál es el intermediario del Ciclo de Krebs que transporta los grupos acetatos desde la mitocondria al citosol?
- Esquematizar las etapas de la síntesis de ácidos grasos indicando las enzimas correspondientes.
- ¿Cuál es la etapa limitante de la velocidad de reacción y cuáles son los moduladores de la enzima?
- ¿Cuántas moléculas de NADPH y ATP se requieren para sintetizar palmitoil-ACP?
- ¿De dónde proviene el NADPH?

**T.P. DE AULA N° 9****DEGRADACION DE AMINOACIDOS****OBJETIVOS**

- Comprender el proceso de degradación de los aminoácidos como fuente de energía para los organismos.
- Comparar los modos de eliminación de restos aminados en los diferentes organismos.
- Interrelacionar el metabolismo de los aminoácidos con otras vías metabólicas como la formación de cuerpos cetónicos o hidratos de carbono.
- Adquirir una visión general del metabolismo del nitrógeno en los organismos fijadores.
- Entender la importancia de los aminoácidos por sus funciones precursoras y valorar su papel fisiológico en los organismos.

**INTRODUCCION**

La función fundamental de las proteínas en la dieta es la de proporcionar nitrógeno aminoacídico para la síntesis de nuevas proteínas y otras sustancias nitrogenadas. Las proteínas de los alimentos deben ser digeridas por enzimas proteolíticas del tracto intestinal, a péptidos pequeños o aminoácidos libres.

Las enzimas proteolíticas incluyen: la *pepsina* presente en el jugo gástrico, proteasas segregadas por el páncreas (*tripsina*, *quimotripsina*, *carboxipeptidasas A y B*, *elastasa*) y por las células de la mucosa intestinal (*aminopeptidasas*, *dipeptidasas*).

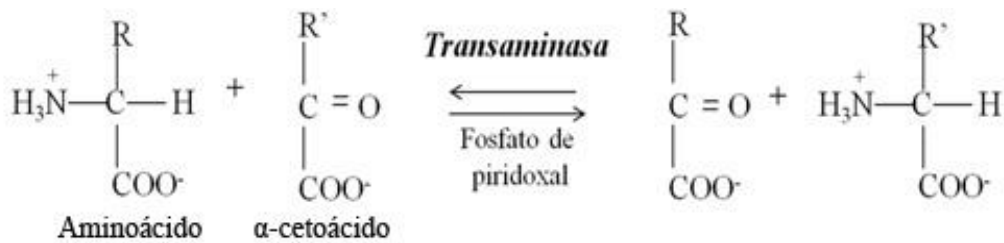
Los aminoácidos libres y los péptidos pequeños se absorben a través de las células de la mucosa intestinal. Existen mecanismos específicos de absorción para aminoácidos ácidos, básicos y neutros. Los péptidos absorbidos son hidrolizados a aminoácidos en el interior de la célula intestinal, los cuales pasan luego a la vena porta para su transporte al hígado u otros tejidos.

Además de su rol primario en la síntesis de proteínas tisulares, los aminoácidos pueden ser convertidos en otros metabolitos esenciales ó ser degradados a sus esqueletos carbonados tras la eliminación del grupo amino. Los restos carbonados pueden convertirse en otros

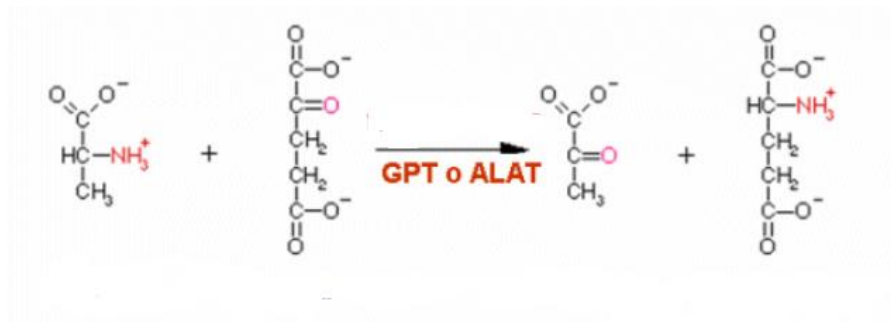
metabolitos (glucosa, cuerpos cetónicos, etc.) u oxidarse mediante el ciclo de Krebs, para producir  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y ATP. La pérdida del grupo amino ocurre por dos rutas principales:

**transaminación y desaminación oxidativa.**

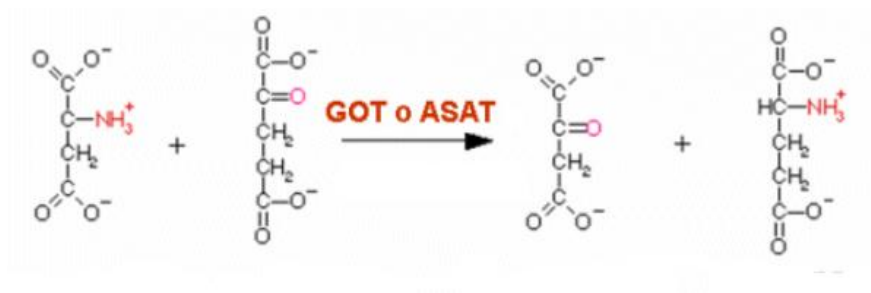
La ecuación general de **transaminación** puede representarse así:



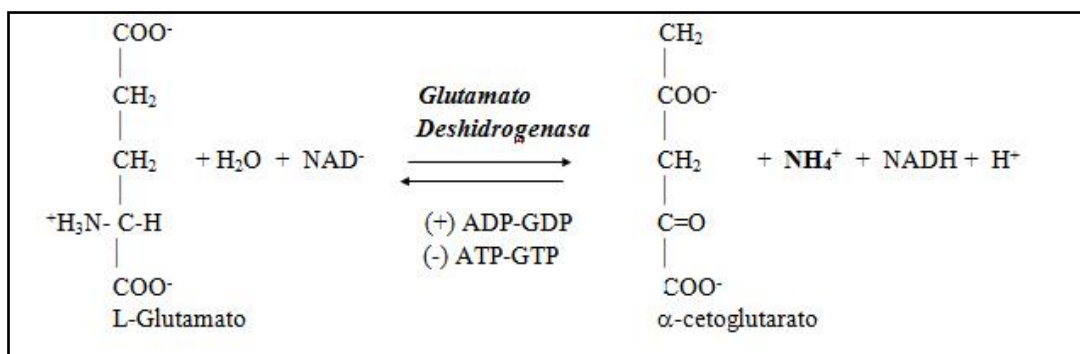
Uno de los  $\alpha$ -cetoácidos implicados con mayor frecuencia en las reacciones de transaminación es el  $\alpha$ -cetoglutarato. Cuando éste recibe el grupo amino cedido por alanina la reacción es catalizada por la enzima alanina-amino transferasa (ALAT) también conocida como glutámico-pirúvico transaminasa (GPT).



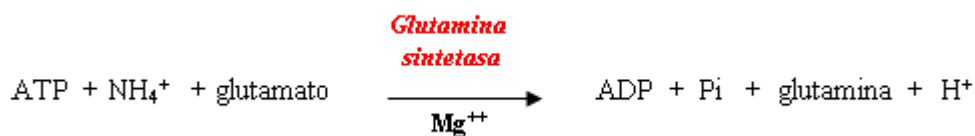
Cuando el  $\alpha$ -cetoglutarato recibe el grupo amino de aspartato, la enzima que cataliza la reacción es la aspartato-amino transferasa (ASAT) también conocida como glutámico-oxalacético transaminasa (GOT).



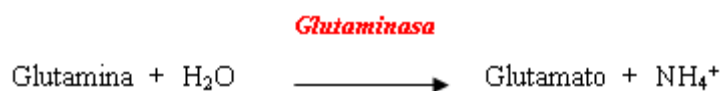
La pérdida del grupo amino por **desaminación oxidativa** ocurre mediante la siguiente reacción:



El amoníaco es transportado desde los tejidos periféricos al hígado o los riñones en forma de un compuesto no tóxico, glutamina. La síntesis de glutamina tiene lugar por acción de la enzima **glutamina sintetasa** que promueve la siguiente reacción:



En la mayor parte de los animales, la glutamina es transportada por vía sanguínea hasta el hígado en donde se transforma en glutamato y amoníaco por acción de la **glutaminasa**. Esta enzima también se encuentra en los túbulos renales.



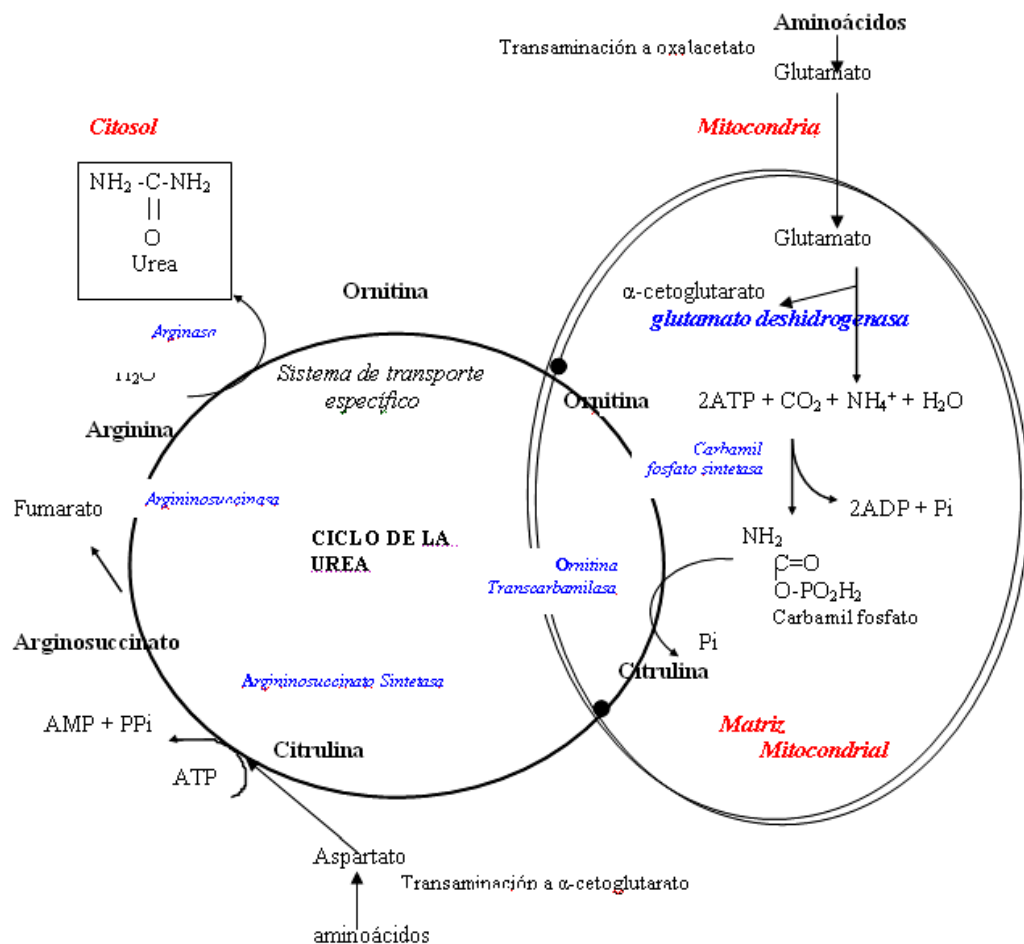
En la mayoría de los vertebrados terrestres, el  $\text{NH}_4^+$  así formado se convierte en urea en el hígado, y en menor proporción en riñón, y luego ésta es excretada con la orina.

### Ciclo de la Urea

Los átomos de nitrógeno de los grupos alfa amino, separados de los aminoácidos durante su degradación oxidativa, son excretados por orina en forma de urea, amoníaco ó ácido úrico, según la especie.

La formación de urea tiene lugar en el hígado y es catalizada por una secuencia de reacciones enzimáticas que se denomina Ciclo de la Urea. En este ciclo se utiliza el amoníaco liberado durante las reacciones de desaminación oxidativa y  $\text{CO}_2$ , y se incorpora luego otro

resto amino proveniente del aspartato. La urea es transportada por la sangre a los riñones y se elimina por orina.

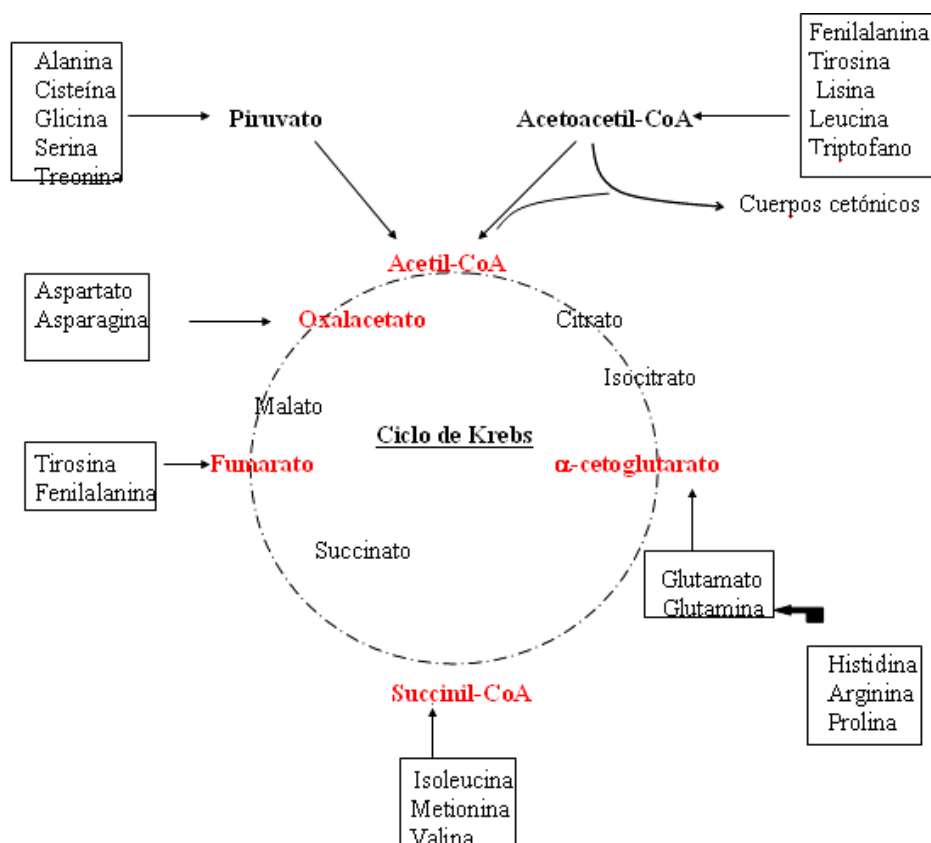


**Fig. 28: Representación esquemática del Ciclo de la Urea.**

### Destino del Esqueleto Carbonado de los Aminoácidos

Para la degradación existen secuencias multienzimáticas que convergen finalmente en unas pocas rutas terminales que conducen a piruvato, a acetil-CoA o a los intermediarios del ciclo de Krebs, como lo muestra el esquema siguiente:





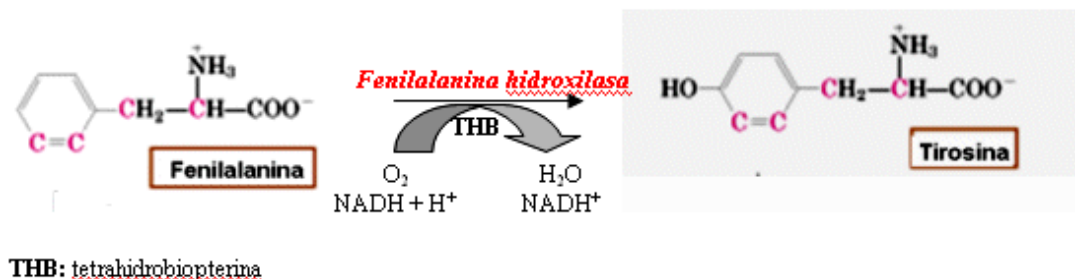
**Fig. 29: Destino del esqueleto carbonado de los aminoácidos.**

De acuerdo con el esquema anterior los aminoácidos pueden ser clasificados como:

- 1- Aminoácidos que se catabolizan transformándose en **piruvato**: alanina, cisteína, glicina, serina y treonina.
- 2- Aminoácidos que se catabolizan transformándose en **acetoacetyl-CoA**: fenilalanina, tirosina, lisina, leucina y triptófano.
- 3- Aminoácidos que se catabolizan transformándose en **oxalacetato**: asparagina y ácido aspártico.
- 4- Aminoácidos que se catabolizan transformándose en **succinil-CoA**: isoleucina, metionina y valina.
- 5- Aminoácidos que se catabolizan transformándose en **α-cetoglutarato**: ácido glutámico, glutamina, histidina, arginina y prolina.
- 6- La ruta del **fumarato** es seguida por algunos átomos de carbono de la tirosina y la fenilalanina.

### Catabolismo de aminoácidos aromáticos: fenilalanina y tirosina

En condiciones normales, la fenilalanina se convierte en tirosina mediante una reacción irreversible catalizada por fenilalanina hidroxilasa.



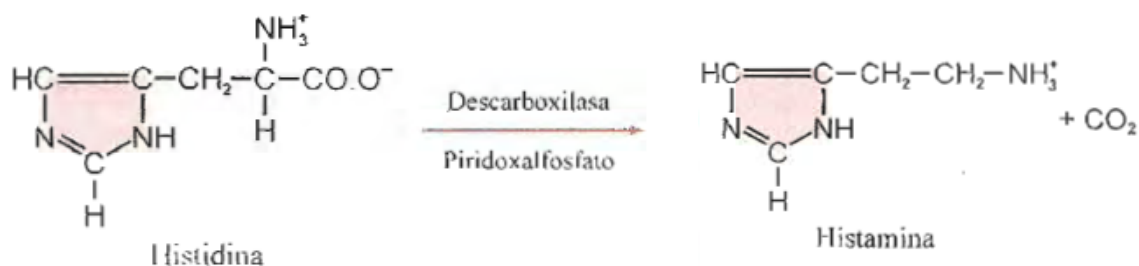
En la enfermedad hereditaria denominada fenilcetonuria, existe un déficit de la enzima fenilalanina hidroxilasa. En esta situación, fenilalanina se acumula y transamina, formando el cetoácido fenil-piruvato. Este compuesto origina luego fenil-acetato y fenil-lactato, los cuales son excretados en grandes cantidades por los pacientes que padecen esta patología. Por prevención es obligatorio el diagnóstico de esta deficiencia enzimática en todos los recién nacidos, ya que la falta de un tratamiento adecuado y a tiempo, conduce a retraso mental.

### Funciones Precursoras de los Aminoácidos: Conversión a Productos Especializados.

La síntesis proteica es la función sintética principal de los aminoácidos, desde un punto de vista cuantitativo, pero además sirven como precursores de otros compuestos nitrogenados. Los compuestos derivados de aminoácidos, fisiológicamente muy importantes, constituyen los llamados péptidos bioactivos que incluyen al hemo, purinas, pirimidinas, hormonas, neurotransmisores. Estos compuestos tienen gran importancia médica o farmacológica.

**Glicina:** la molécula entera de glicina es utilizada para la síntesis de purinas. El C  $\alpha$  y el N se emplean en la síntesis del hemo. Este aminoácido también es precursor de la síntesis de glutatión.

**Histidina:** es precursora de la síntesis de histamina por descarboxilación. En los tejidos de mamíferos esta reacción es catalizada por una descarboxilasa (*L-aminoácido aromático descarboxilasa*) que también cataliza también la descarboxilación de fenilalanina, tirosina, triptófano y DOPA. Está presente en riñón y otros tejidos y emplea fosfato de piridoxal como coenzima.



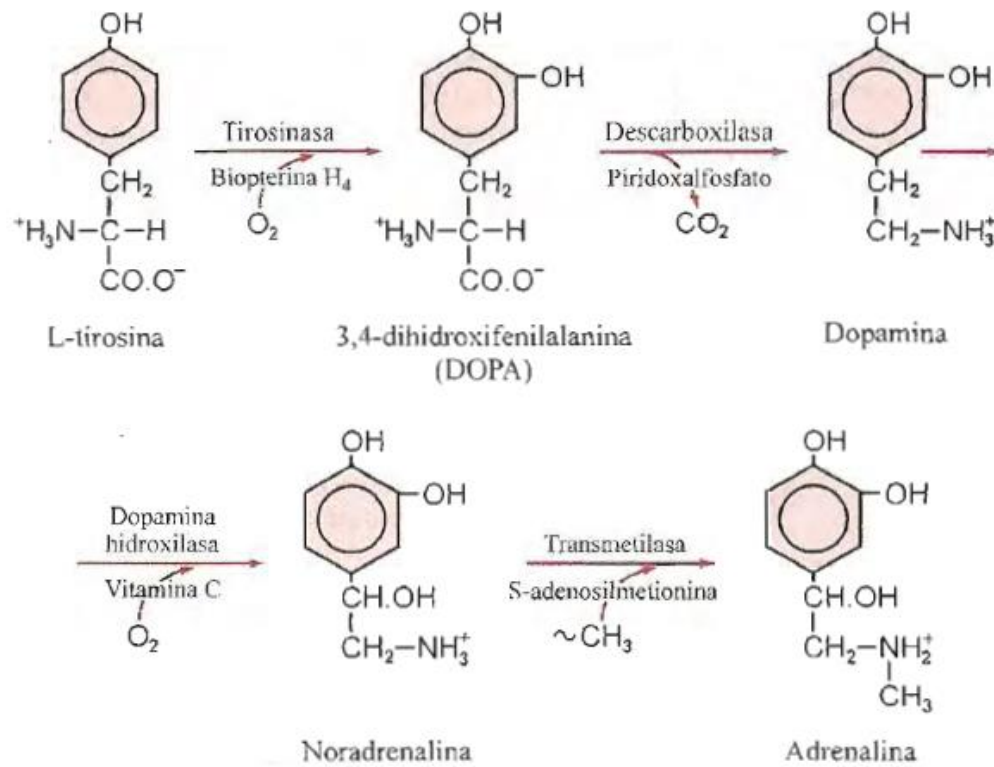
La histamina es una amina biógena de gran actividad fisiológica. Disminuye la presión sanguínea, pudiendo provocar un colapso vascular si es suministrada en grandes dosis. Estimula la secreción de HCl y pepsina en el estómago.

**Tirosina y triptófano:** a partir de estos aminoácidos por descarboxilación se obtiene tiramina y triptamina respectivamente, ambas aminas con acción vasoconstrictora.

Triptófano además es precursor de muchos compuestos de fundamental importancia para el hombre. Una de las vías que puede seguir este aminoácido comprende su hidroxilación en el C5, formando así 5-hidroxitriptófano, el cual en una segunda etapa se descarboxila y forma 5-hidroxitriptamina, también llamada serotonina, un poderoso vasoconstrictor y estimulante de la contracción del músculo liso.

**Ácido glutámico:** por descarboxilación, se forma el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). La enzima que cataliza esta reacción se encuentra preferentemente en la sustancia gris del sistema nervioso central. El GABA es un intermediario químico regulador de la actividad neuronal. Actúa como inhibidor de la transmisión del impulso nervioso. Su deficiencia provoca cuadros de epilepsia. Farmacológicamente el GABA se utiliza para el tratamiento de epilepsia y de hipertensión.

**Fenilalanina y tirosina:** pueden seguir una vía metabólica que conduce a la síntesis de sustancias de gran actividad fisiológica llegando a la formación de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y dopamina)



**Fig. 30: Síntesis de catecolaminas a partir de tirosina.**

Tirosina también es precursora de la melanina, pigmento que da color a la piel y el pelo, y de las hormonas tiroideas: triiodotironina (T<sub>3</sub>) y tiroxina (T<sub>4</sub>).

**PROBLEMAS DE APLICACIÓN**

- 1) Nombrar los  $\alpha$ -cetoácidos que se forman por transaminación de los siguientes aminoácidos:
  - a- Aspartato
  - b- Glutamato
  - c- Alanina
  - d- Fenilalanina
  
- 2) Los tres carbonos del lactato y de la alanina poseen estados de oxidación idénticos, y los animales pueden utilizar cualquiera de ellos como fuente carbonada para combustible metabólico. Compare el rendimiento neto en ATP (moles de ATP por mol de sustrato) para la oxidación completa (a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ) del lactato frente a la alanina cuando se incluye la excreción de nitrógeno en forma de urea.
  
- 3) Una preparación enzimática de hígado fue purificada en base a su capacidad para formar arginina, y se obtuvieron los siguientes datos:

Sustancia agregada					Sustancia aislada	
L-aspartato 20 $\mu\text{M}$	Glutamato 20 $\mu\text{M}$	Oxalacetato 30 $\mu\text{M}$	Citrulina 20 $\mu\text{M}$	Fosfoenol piruvato	Arginina	Malato
+	-	-	+	+	14,4	14,5
+	-	-	-	+	0,0	0,0
+	-	-	+	-	0,9	1,0
-	+	+	+	+	7,0	6,8
-	+	-	+	+	0,0	0,0
-	+	+	-	+	0,0	0,1
-	-	+	+	+	0,0	0,2

La mezcla de incubación fue la siguiente: ATP 4 $\mu\text{M}$ , sulfato de magnesio 13  $\mu\text{M}$  y buffer fosfato pH 7,5. La preparación contenía 31 mg de proteínas y piruvato quinasa. Se incubó 20 min a 38°C. La arginina se estimó como urea porque la preparación contenía arginasa.

¿Qué conclusiones puede sacar de estos datos?

- 4) En un trabajo reciente se describe que a gatos casi adultos que se habían mantenido en ayuno durante una noche, se les administró una sola comida que contenía una dieta completa de aminoácidos pero sin arginina. Al cabo de dos horas los niveles de amoníaco en sangre

aumentaron desde un nivel normal de 18µg/L hasta 140 µg/L y los gatos mostraban los síntomas clínicos de la toxicidad del amoníaco. Un grupo control recibió una dieta completa de aminoácidos o una dieta de aminoácidos en la que la arginina fue sustituida por la ornitina, no mostraron síntomas clínicos anormales.

- a- ¿Qué papel desempeña el ayuno en el experimento?
- b- ¿Cuál fue la causa del aumento de los niveles de amoníaco? ¿Por qué la ausencia de arginina condujo a la toxicidad por amoníaco?
- c- ¿Es la arginina un aminoácido esencial en los gatos?

¿Por qué la ornitina puede sustituir a la arginina?

5) ¿Cuáles de los siguientes compuestos se forman principalmente por biosíntesis a partir de tirosina en mamíferos? Justifique su respuesta en cada caso.

- a- Serotonina
- b- Tiroxina
- c- Fenilalanina
- d- Adrenalina
- e- Ácido homogentísico

### PROBLEMAS COMPLEMENTARIOS

1) Consumo de ATP por los nódulos de las raíces de plantas leguminosas. Las bacterias que residen en los nódulos de la planta del guisante consumen más del 20% de todo el ATP que produce la planta. Sugerir alguna razón por la que estas bacterias consumen tanto ATP.

2) Cuando el ácido glutámico marcado con  $^{15}\text{N}$  en el grupo amino, experimenta su degradación oxidativa en el hígado de una rata ¿cuáles serán los átomos de los siguientes metabolitos en los que se encontrará el isótopo?:

- a- Urea
- b- Citrulina
- c- Ornitina

3) Investigue acerca de la excreción del nitrógeno en los siguientes vertebrados:

- a- Renacuajos y peces teleósteos. En estos grupos es muy activa la enzima *glutaminasa* en las branquias, ¿por qué?
- b- Aves y reptiles. Excretar nitrógeno amínico en forma semisólida es muy costoso energéticamente, ¿qué beneficios pueden justificarlo?
- c- Pez pulmonado en período de sequía.

Bibliografía complementaria: Stryer L. Vol II, 4ª ed. Ed Reverté S.A.

## GUIA DE ESTUDIO

### Degradación de aminoácidos

- Formule las dos reacciones mediante las cuales los aminoácidos pierden su grupo amino.
- ¿En qué lugar de la célula se encuentran las enzimas que catalizan estas reacciones?
- ¿Cuáles son los inhibidores y activadores alostéricos de la enzima glutamato deshidrogenasa?
- Formule las reacciones de transaminación de GOT Y GPT.
- ¿Cuál es el cofactor que utilizan las transaminasas y cómo actúa?
- ¿Cómo se sintetiza glutamina? Formule la reacción completa.
- ¿Mediante qué reacciones la glutamina se transforma en un intermediario del Ciclo de Krebs?
- Esquematice la reacción de fenilalanina a tirosina indicando enzima y cofactor.
- ¿En qué vías metabólicas pueden utilizarse los productos de degradación de los aminoácidos?
- ¿Qué intermediarios del ciclo de Krebs se forman por degradación de cada uno de los aminoácidos?
- ¿Cuáles son los aminoácidos glucogénicos y cetogénicos?

### Ciclo de la urea

- ¿En qué órganos se lleva a cabo el ciclo de la urea?
- ¿En qué lugar de la célula ocurren las diferentes reacciones del ciclo y qué funciones cumple?
- ¿Cuáles son las dos reacciones que permiten la eliminación del grupo amino de los aminoácidos y su entrada al ciclo de la urea como ión amonio?
- ¿De cuáles aminoácidos provienen los nitrógenos de la urea?
- ¿De qué reacción proviene el primer grupo amino que entra en el ciclo de la urea en forma de amoníaco libre?
- ¿Cuáles son las reacciones que consumen energía y cuántos enlaces ricos en energía se gastan en cada una de ellas?
- ¿Qué productos de deshecho se eliminan por el ciclo de la urea?

## T.P. DE AULA N° 10

### BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS

#### OBJETIVOS

- Comprender los fundamentos de la síntesis de las bases nitrogenadas y de los nucleótidos y desoxinucleótidos, como precursores de ácidos nucleicos.
- Reconocer los precursores de la síntesis del núcleo de purina y pirimidina.
- Interrelacionar el metabolismo de los nucleótidos con otras vías metabólicas.
- Comprender los mecanismos de regulación de la síntesis de nucleótidos.
- Abstractar la importancia de la recuperación de bases púricas y pirimidínicas.
- Conocer y comparar la degradación de los nucleótidos púricos y pirimidínicos en diversos organismos.

#### INTRODUCCION

La biosíntesis de los desoxirribonucleótidos y de los ribonucleótidos, constituye un proceso fundamental en todas las células, puesto que los nucleótidos son los precursores directos del DNA y del RNA, y además muchos participan en el metabolismo como coenzimas.

Un aspecto importante de la biosíntesis de los nucleótidos lo constituye la ruta de formación de sus bases: las pirimidinas y las purinas.

Tanto los nucleótidos como sus bases nitrogenadas se emplean con economía, en la mayoría de los organismos no se utilizan como fuente de energía.

Los ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos son sintetizados a partir de compuestos sencillos y en la mayor parte de los organismos siguen la misma vía (solamente algunas bacterias requieren bases púricas o pirimidínicas preformadas).

Estas vías de biosíntesis de los nucleótidos están sometidas a estrictos mecanismos de control a través de enzimas alostéricas. Dado que los cuatro desoxirribonucleótidos principales y los cuatro ribonucleótidos fundamentales se hallan insertados en el DNA y en el RNA de las células según relaciones molares específicas, dichos mecanismos reguladores se adecuan para lograr una proporción de nucleótidos conveniente para cada tipo de ácido nucleico y para cada tipo de célula.



Tanto el DNA como el RNA son polinucleótidos constituidos cada uno por:

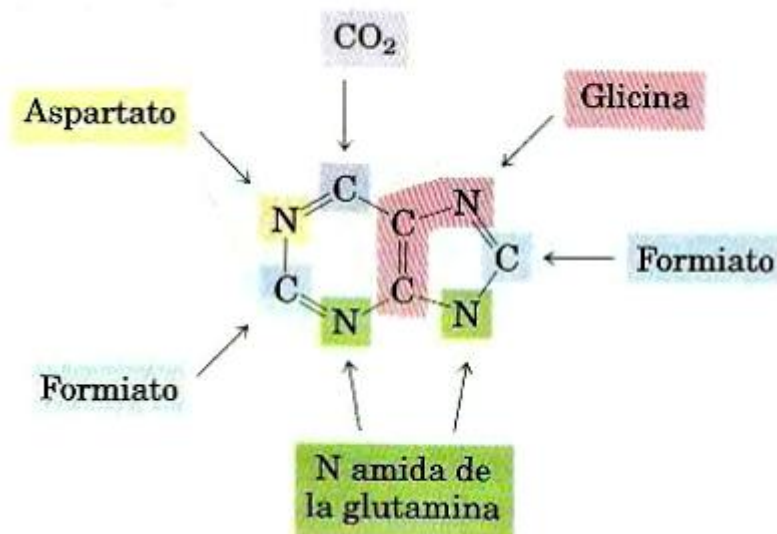
- una base nitrogenada
- un grupo fosfato
- una pentosa

En el DNA la pentosa es la 2-D-desoxirribosa, las bases nitrogenadas derivadas de la purina son adenina y guanina y las derivadas de la pirimidina son timina y citosa.

En el RNA la pentosa es la D-ribosa, las bases nitrogenadas derivadas de la purina son adenina y guanina y las derivadas de la pirimidina son uracilo y citosa.

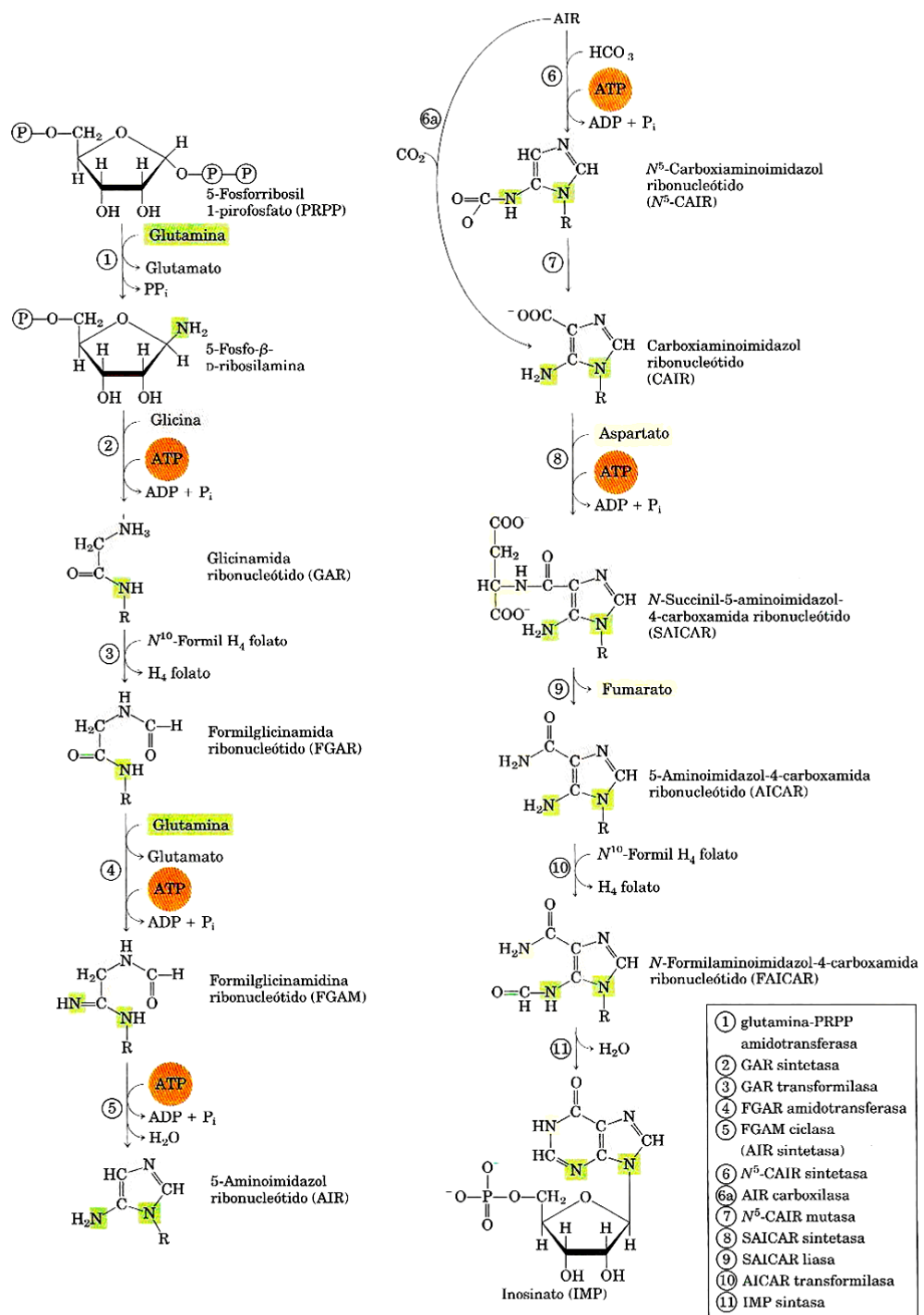
### Biosíntesis de ribonucleótidos púricos

Se ha podido determinar el origen de cada uno de los carbonos y nitrógenos del núcleo de la purina:



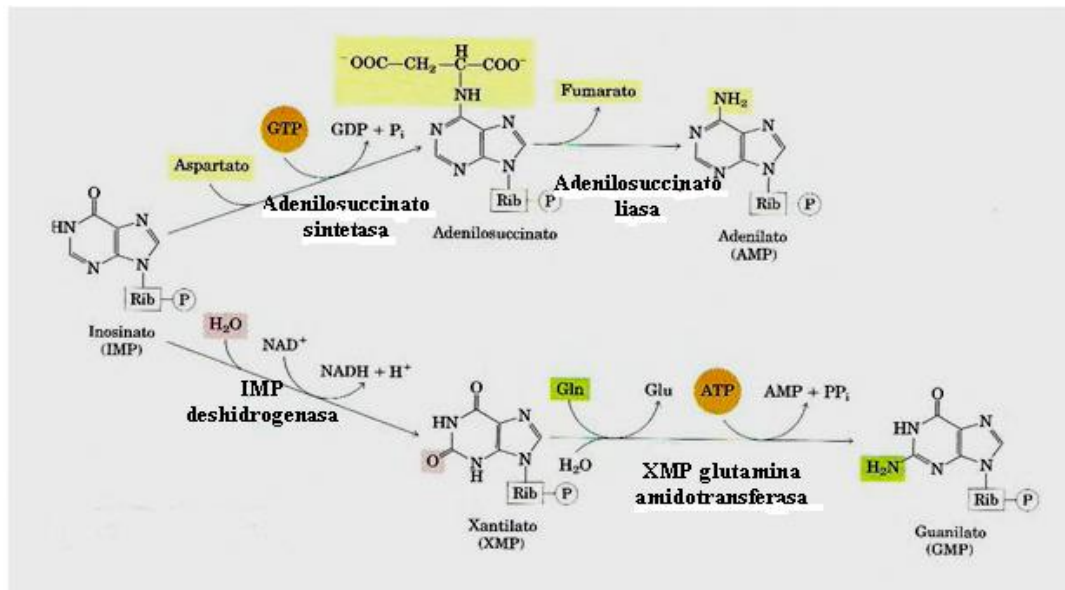
**Fig. 31:** Origen de los átomos de carbono y nitrógeno que constituyen el anillo de purina. Tomado de Nelson D.L. and Cox M.M., "Lehninger. Principios de Bioquímica, 4<sup>ta</sup> edición.

Aunque podría esperarse que se sintetizase el anillo de purina en primer lugar y se uniese después la porción de fosfato de ribosa, la biosíntesis de los ribonucleótidos púricos comienza con la ribosa-5-fosfato y sobre él, se construye el anillo de purina en etapas sucesivas.



**Fig. 32:** Nucleótidos púricos: Síntesis de Ácido Inosínico (IMP). Tomado de Nelson D.L. and Cox M.M., "Lehninger. Principios de Bioquímica, 4<sup>ta</sup> edición.

Los nucleótidos de purina AMP y GMP, derivan del monofosfato de inosina (IMP) como se indica en el siguiente esquema:

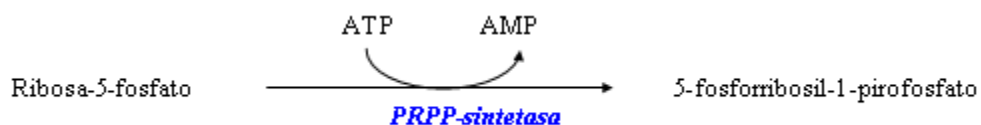


**Fig. 33:** Conversión de ácido inosínico en AMP y GMP. Tomado de Nelson D.L. and Cox M.M., "Lehninger. Principios de Bioquímica, 4<sup>ta</sup> edición.

### Regulación de la síntesis de purinas

La síntesis de nucleótidos púricos es regulada por retroalimentación en varios niveles:

- a) Formación de PRPP (5 fosforribosil-1-pirofosfato) por la enzima *PRPP-sintetasa*.

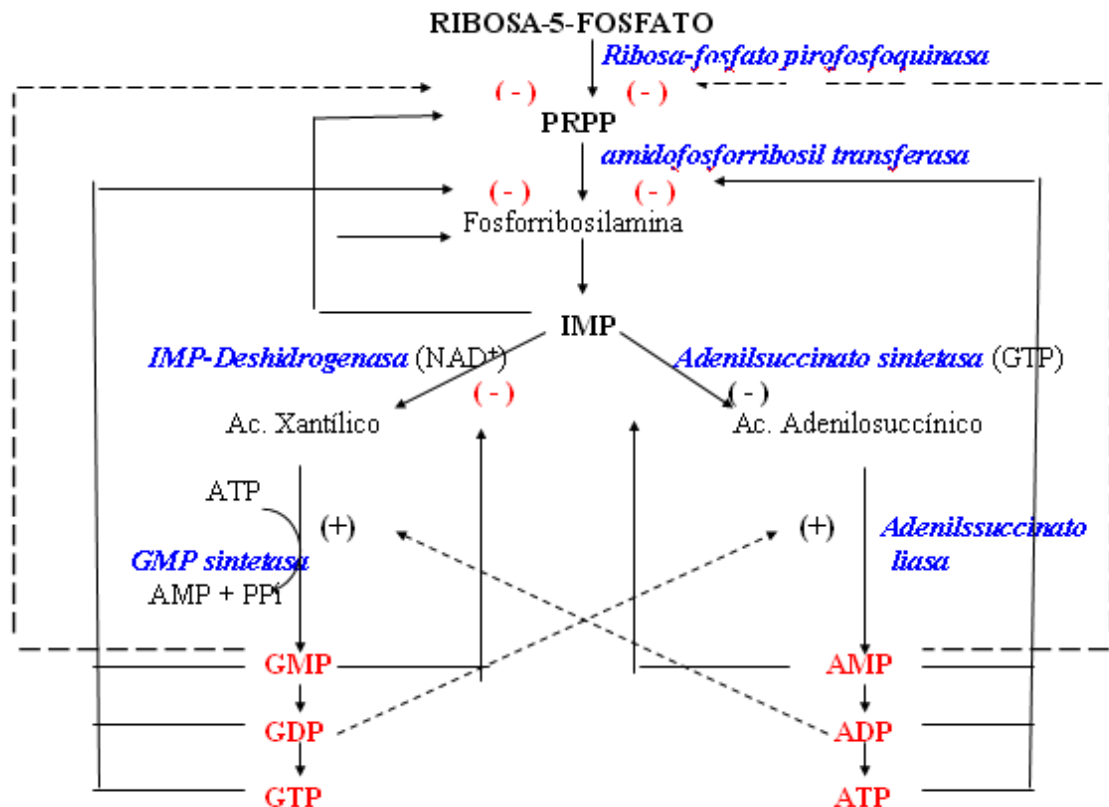


- b) Etapa que va desde PRPP a fosforribosilamina catalizado por la enzima amidofosforribosiltransferasa, que es el principal sitio de control. Los nucleótidos AMP, ADP, ATP, GMP, GDP y GTP actúan como inhibidores.



- c) En la vía de bifurcación del IMP para la formación de ATP y GTP. El GTP es utilizado en la síntesis de AMP, mientras que el ATP se utiliza en la síntesis de GMP. Esto lleva que haya un equilibrio en la síntesis de los ribonucleótidos de adenina y guanina. Cuando se acumula GTP se activa la enzima *adenilosuccinatosintetasa* produciéndose más

ATP. Cuando se acumula ATP se activa la enzima GMP-sintetasa aumentando los niveles de GTP.



**Fig. 34:** Regulación de la síntesis de GTP y ATP.

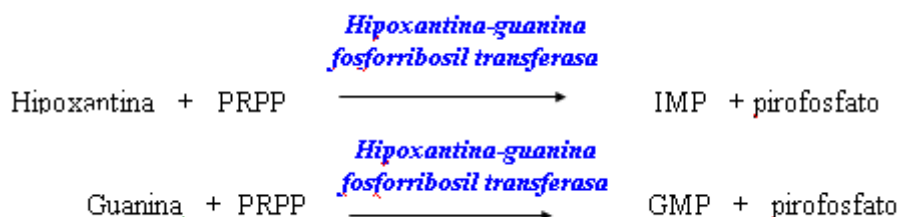
*PRPP glutamilamidotransferasa* también es inhibida por IDP e ITP.

### Vía de Recuperación de purinas

Las bases púricas libres, ya sean que procedan de la alimentación o del catabolismo de los ácidos nucleicos, pueden ser recicladas en AMP o GMP. El mecanismo principal reside en la reacción de la *adenina-fosforribosil-transferasa*:



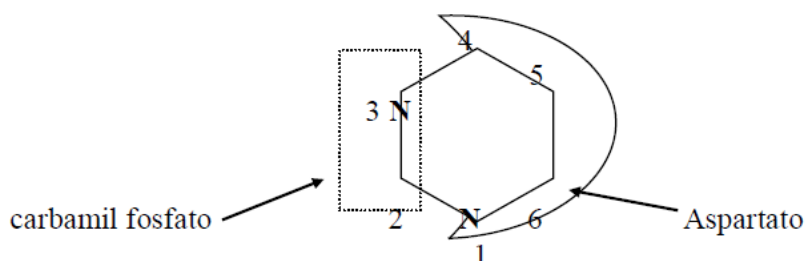
En una reacción semejante, la hipoxantina y la guanina son transformadas en los nucleótidos correspondientes por acción de la *hipoxantina-guanina fosforribosil-transferasa*.



### Biosíntesis de nucleótidos pirimídicos

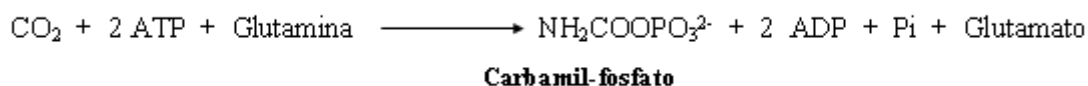
La biosíntesis de los nucleótidos de pirimidina transcurre de una manera algo diferente de la de los nucleótidos de purina. En este caso el anillo de pirimidina se sintetiza primero y luego se une al fosfato de ribosa.

Se necesita carbamil fosfato y aspartato como precursores. La contribución de ambos compuestos en la formación del anillo de pirimidina se puede representar así:

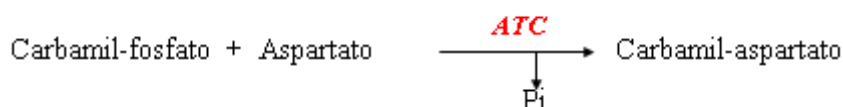


**Fig. 35:** Origen de los átomos de carbono y nitrógeno que constituyen el anillo de pirimidina.

El primer paso de la síntesis es la formación del carbamilo-fosfato. El grupo amino procede de la desaminación de glutamina. La reacción catalizada por una *carbamil fosfato sintetasa* se puede representar:

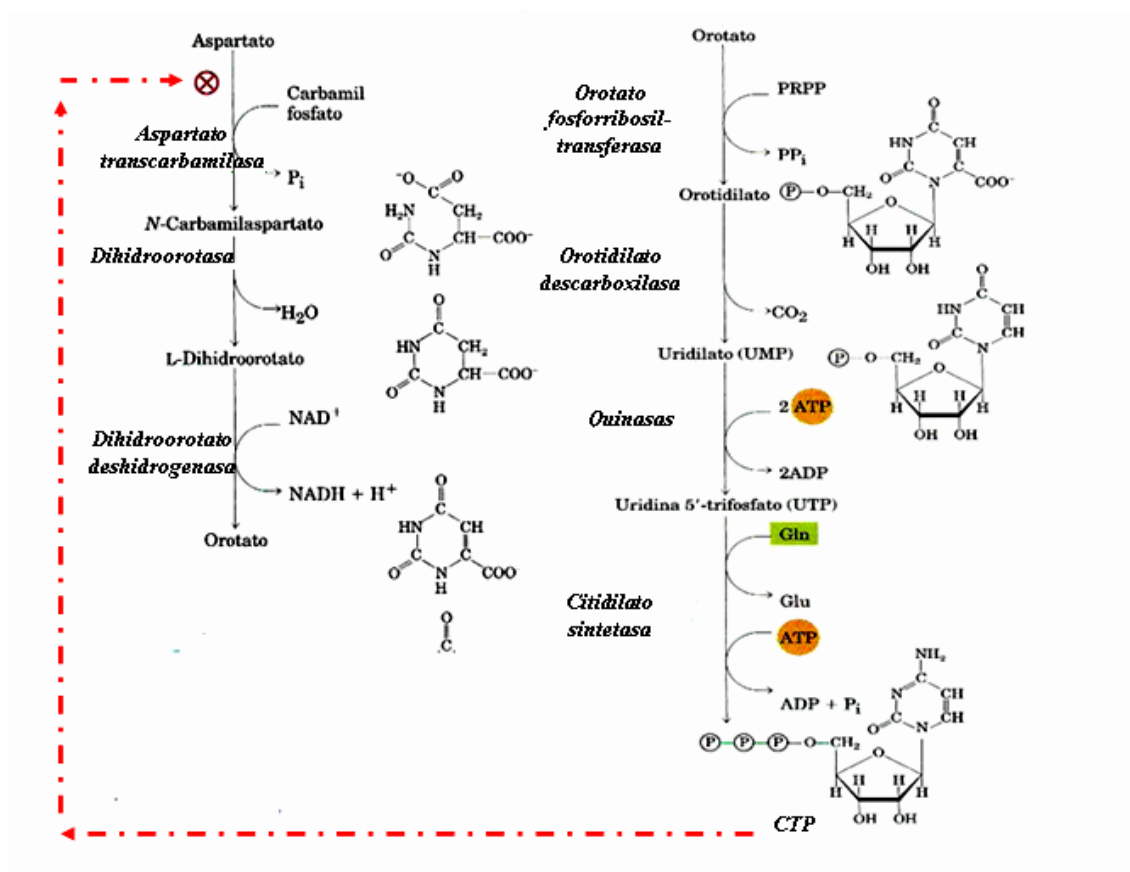


Una vez formado el carbamil-fosfato, se combina con aspartato para formar carbamil-aspartato. La reacción es catalizada por la *aspartato transcarbamilasa (ATC)*.



Después de tres pasos se obtiene el primer nucleótido de pirimidina (UMP) el cual se convierte posteriormente en UTP y CTP.

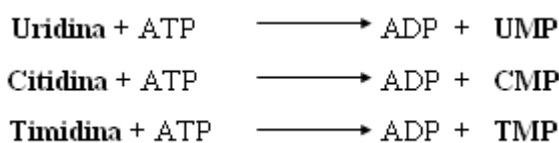
La biosíntesis de los nucleótidos pirimidínicos está regulada a nivel de la enzima alostérica *aspartatotranscarbamilasa*, la cual es inhibida por retroalimentación por el CTP (citidin trifosfato), producto final de la vía.



**Fig. 36:** Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos. Tomado y modificado de Nelson D.L. and Cox M.M., "Lehninger. Principios de Bioquímica, 4<sup>ta</sup> edición.

### Recuperación de bases pirimidínicas

Las células de mamíferos no poseen mecanismos para recuperar nucleótidos a partir de bases libres, sin embargo poseen vías de recuperación para convertir **nucleósidos** (uridina, citidina y timidina) en los **nucleótidos** correspondientes.

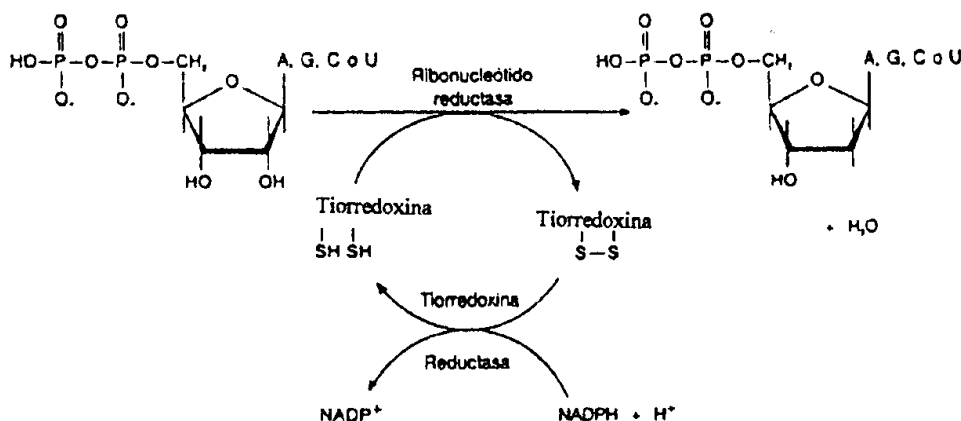


### Biosíntesis de desoxirribonucleótidos

Normalmente los desoxirribonucleótidos no se sintetizan a partir de la desoxirribosa como elemento de construcción, sino que se forman por reducción directa del carbono 2' de los correspondientes ribonucleótidos.

Esta vía ha sido muy estudiada en *E. coli*, donde los 4 ribonucleósidos difosfatos (ADP, GDP, UDP, CDP) son directamente reducidos a los correspondientes desoxi-análogos (dADP, d-GDP, dUDP, dCDP). La reacción es catalizada por la *ribonucleósidosdifosfatoreductasa*, enzima que requiere NADPH y tiorredoxina.

En el siguiente esquema se muestra la reducción en general de los nucleósidosdifosfatos en los correspondientes desoxi-nucleósidosdifosfat



**Fig. 37:** Biosíntesis de desoxirribonucleótidos.

El control alostérico se realiza a nivel de la enzima *ribonucleótidosdifosfatoreductasa*. El dATP actúa como inhibidor general de todos los ribonucleósidos-5-difosfatos. Como el DNA contiene **timina** en lugar de **uracilo**, el **d-TMP** (ácido desoxitimidílico) se forma a partir del **d-UMP** (ácido desoxiuridílico) por acción de la enzima *timidilatosintetasa*, actuando el  $N^5N^{10}$ **Metilén-FH<sub>4</sub>** como dador del grupo metilo.

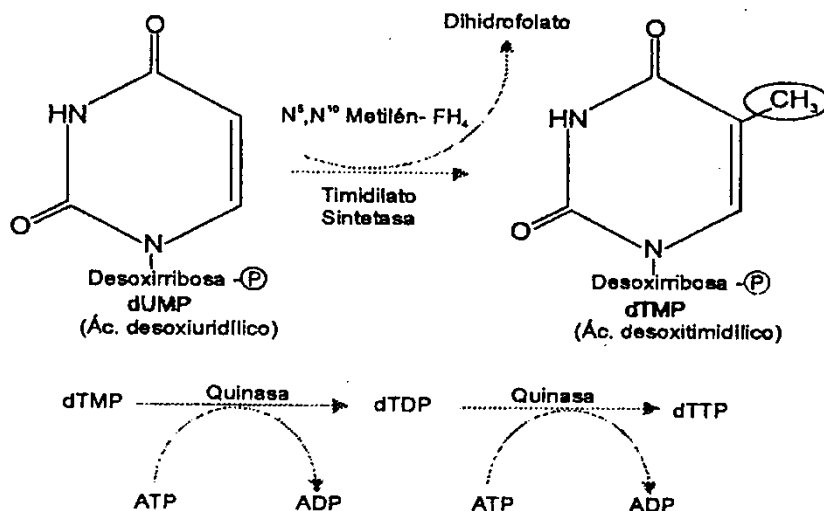


Fig. 38: Biosíntesis de ácido desoxitimídilico (dTMP).

### Catabolismo de purinas

Si las bases libres no son recuperadas y reutilizadas, son degradadas y sus productos finales excretados. La degradación de purinas a ácido úrico ha sido muy estudiada.

Las principales purinas, adenina y guanina, se convierten en xantina, la cual es oxidada a ácido úrico por la acción de la enzima *xantina oxidasa*.



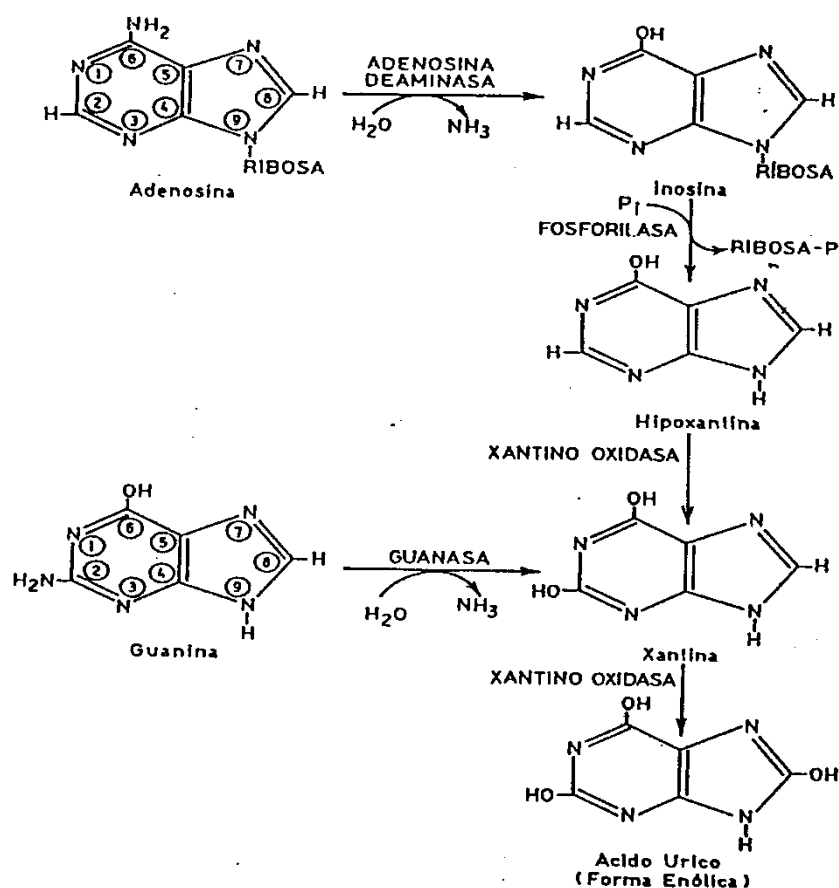


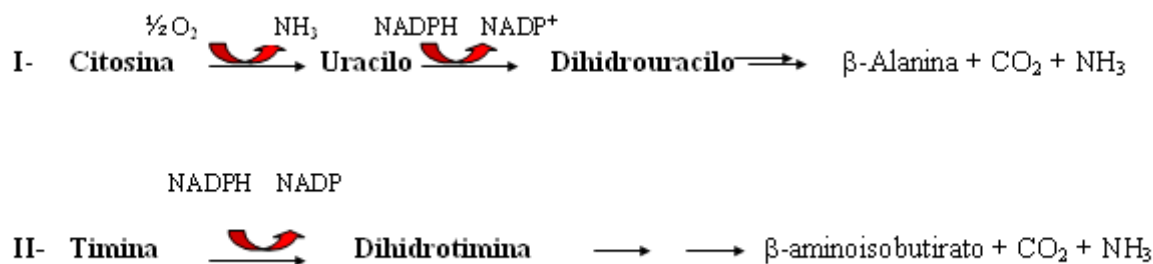
Fig. 39: Catabolismo de bases púricas: formación de ácido úrico.

### Degradación de las bases pirimidínicas

El catabolismo de las pirimidinas ocurre principalmente en el hígado y da por resultado la producción de una serie de productos finales altamente solubles. Esto es opuesto a lo que ocurre en el catabolismo de las purinas donde se producen compuestos escasamente solubles: ácido úrico y urato de sodio.

El desprendimiento de CO<sub>2</sub> respiratorio a partir del C2 del núcleo pirimidínico, representa una vía importante para el catabolismo de uracilo, citosina y timina. La β-alanina y el ácido β-aminoisobutírico son los principales productos finales del catabolismo de estas bases.

En pacientes leucémicos y en los sometidos a tratamientos con rayos X se produce un aumento en la eliminación de β-aminoisobutírico, como índice de la degradación exagerada del ADN.



### Origen del tetrahidrofolato y sus transformaciones a derivados transportadores de un carbono

El ácido fólico, que se encontró primeramente en las hojas de espinaca, está ampliamente distribuido en las plantas. Su deficiencia en mamíferos provoca una disminución de crecimiento y aparición de diversas formas de anemias.

Contiene tres sillares característicos:

- una pteridina sustituida
- ácido p-aminobenzoico
- ácido glutámico.

El síntoma bioquímico más sobresaliente de la deficiencia de ácido fólico es el impedimento de la biosíntesis de las purinas y de la timina (pirimidina). La forma coenzimática del ácido fólico actúa en la transferencia de ciertos fragmentos monocarbonados utilizados en ésta y otras rutas biosintéticas.

El ácido tetrahidrofólico ( $\text{FH}_4$ ) actúa como transportador intermediario de grupos **hidroximetilos, formilo y metilo**, en gran número de reacciones enzimáticas.

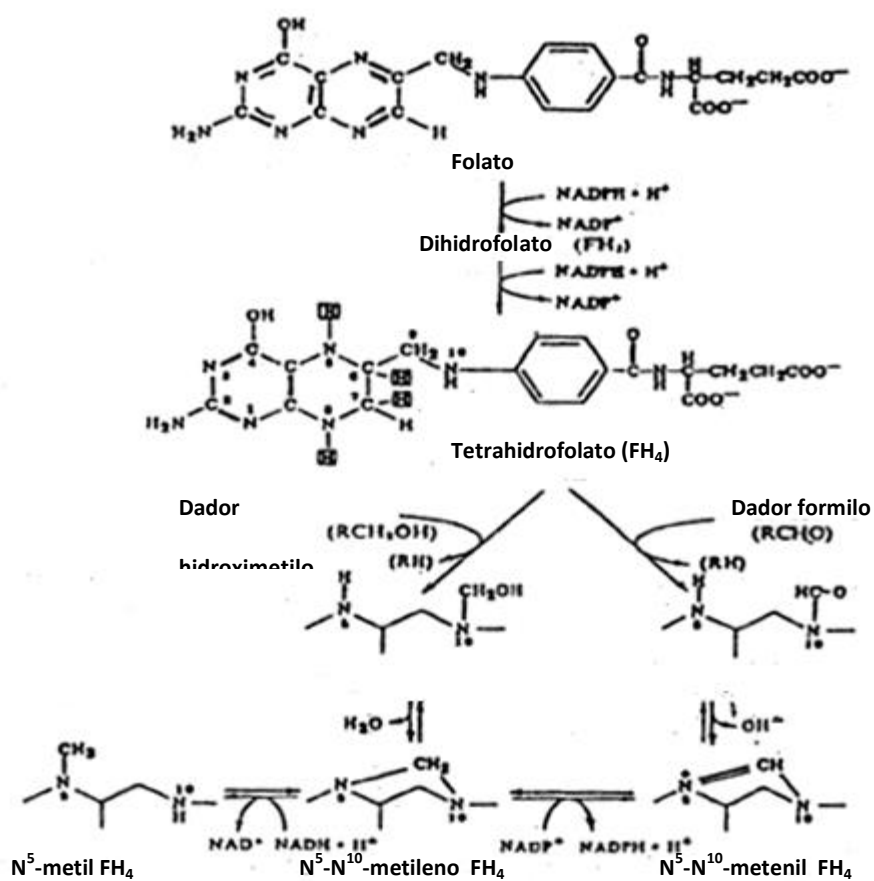


Fig. 40: Ácido Fólico y sus derivados.

1) Indicar la(s) posición(es) en el anillo purínico que se marcará(n) isotópicamente durante la síntesis en las células expuestas a:

- 2)** Indicar la(s) posición(es) principal(es) en el anillo pirimidico del UMP que se marcará(n) isotópicamente durante la síntesis en las células expuestas a:

- 3) Las purinas libres que se forman en la degradación de los nucleótidos de purina se recuperan en gran parte y se emplean de nuevo para sintetizar nucleótidos.**

- b) Diferencie la recuperación de las bases pirimidínicas respecto de las púricas en las células de los mamíferos.

4) El dUMP se convierte en dTMP, que se necesita para la síntesis de ADN, mediante la metilación del dUMP por el N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>metilentetrahidrofolato, catalizada por la enzima timidilatosintetasa. El fluoruracilo derivado de la uridina se transforma por la célula en fluorodesoxiuridilato (F-dUMP), poderoso inhibidor irreversible de la sintetasa del timidilato (ejemplo de droga anticancerígena). ¿Cómo puede interpretarse el hecho de que el fluoruracilo inhiba el crecimiento de las células cancerosas que se están dividiendo rápidamente en los animales de experimentación?

5) ¿Qué productos finales marcados cabrían esperar que resultasen de la degradación en el hombre, de una adenina marcada en las siguientes posiciones:

- a) En el átomo de N3                      b) En el átomo de C5  
b) En el átomo de N del grupo amino de la posición 6

**1.2-** ¿Qué productos finales marcados cabrían esperar si se tratara de una tortuga?

**1.3- ¿Qué productos finales marcados cabrían esperar si se tratara de un anfibio?**

**PROBLEMAS COMPLEMENTARIOS**

1) El alopurinol, un inhibidor de la xantino oxidasa, se emplea en el tratamiento de la enfermedad “gota crónica”. Explique la base bioquímica de este tratamiento. Los pacientes tratados con alopurinol desarrollan en ocasiones cristales de xantina, aunque la incidencia de lesiones renales es mucho menor que en la gota sin tratar. Explique esta observación a la luz de las siguientes solubilidades en orina:

- a) Ácido úrico: 0,15 g/l                      b) Xantina: 0,05 g/l                      c) Hipoxantina: 1,4 g/l

**GUIA DE ESTUDIO****Metabolismo de nucleótidos**

- En la biosíntesis del fosforribosil pirofosfato ¿qué compuestos se requieren?
- ¿Qué compuestos ó intermediarios son comunes en la biosíntesis de los nucleótidos púricos y pirimidínicos?

**Nucleótidos púricos:**

- Mencione las dos bases púricas que obtiene a partir del IMP.
- ¿De qué sustancia proviene cada uno de los átomos que conforman el anillo de purina?
- ¿Cuáles son los compuestos necesarios para su biosíntesis?
- ¿A nivel de qué enzimas está regulada su biosíntesis?
- En la vía de recuperación de bases púricas ¿qué enzima interviene en cada una de las reacciones?
- Degradación de purinas: producción de ácido úrico en el hombre. Derivados de la degradación de ácido úrico en otros vertebrados.

**Nucleótidos pirimidínicos:**

- ¿Cuáles son las bases pirimidínicas que conoce?
- ¿De qué compuesto proviene cada uno de los átomos que conforman el anillo pirimidínico?
- Formule la primera reacción de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos.
- ¿Qué enzima interviene en su regulación y cuál es el compuesto que la inhibe?
- Esquematice la síntesis de desoxitimidinmonofosfato indicando enzimas y cofactores.
- Degradación de bases pirimidínicas: comparación con el catabolismo de bases púricas.

**Desoxirribonucleótidos:**

- En la biosíntesis de los desoxirribonucleótidos ¿qué átomo de carbono se reduce y cuál es la enzima que cataliza la reacción?
- Mencione los desoxirribonucleótidos que conoce.
- Esquematice la síntesis de desoxitimidinmonofosfato indicando enzima y cofactores.

**BIBLIOGRAFIA**

- 1- FEDUCHI, BLASCO, ROMERO, YÁÑEZ, “Bioquímica conceptos esenciales”. Ed. Panamericana. 1° edición (2010)
- 2-BLANCO, A., "Química Biológica", Ed. El Ateneo, 8ª ed. (2007).
- 3- LEHNINGER, A.L., "Principios de Bioquímica", Ed. Omega, 4ª ed. (2008).
- 4- VOET, VOET, PRAT, “Fundamentos de Bioquímica”, Ed. Panamericana, 2da. Ed. (2006).
- 5-MURRAY, GRANNER, MAYER y RODWELL, "Bioquímica de Harper", Ed. El Manual Moderno, 13ª ed. (1994) y 14ª ed. (1997).
- 6-MONTGOMERY, CONWAY, SPECTOR Y CHAPPELL- “Bioquímica – Casos y texto”- Editorial HarcourtBrace, 6º ed.- 1999.
- 7-STRYER, L “Bioquímica”, Tomos I y II, Ed. Reverté S.A., 4º Ed. (1995).